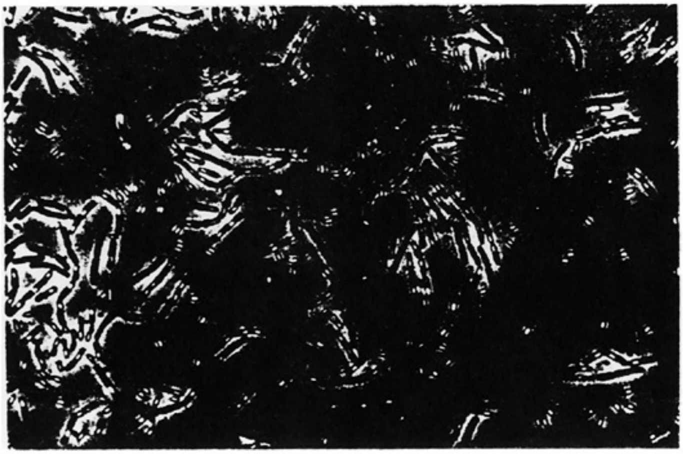
蘇力菌之生產及利用

林學正
台肥公司化工事業部生技研究組

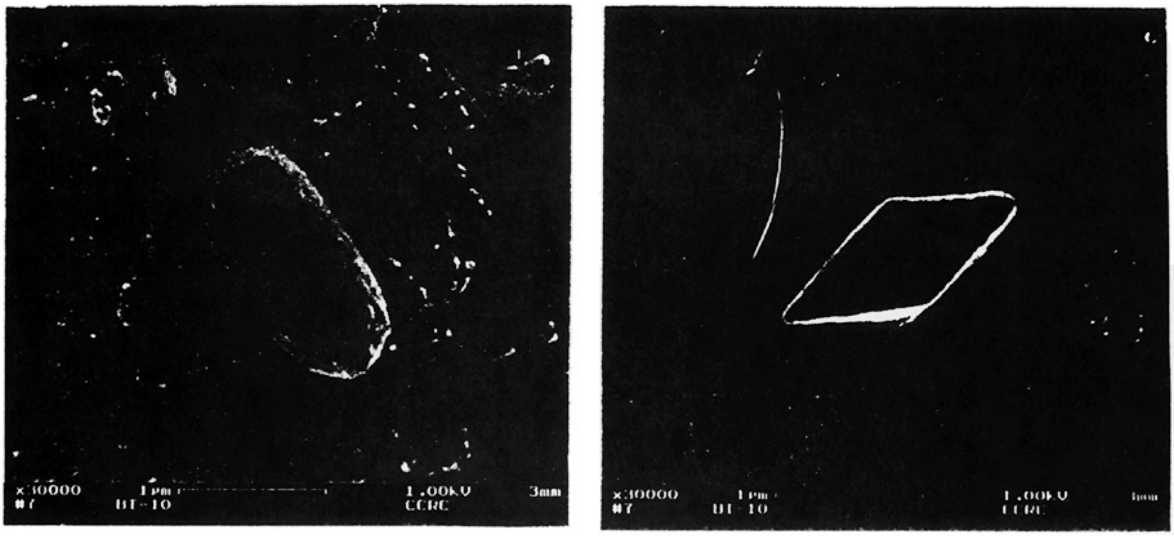
蘇力菌簡介

蘇力菌（*Bacillus thuringiensis*）在菌種分類上屬於芽胞菌科(*Bacillacea*)，桿菌屬(*Bacilli*)之細菌，它在產孢的同時會形成側孢晶體(Parasporal crystalline)（圖一，圖二），其中含 δ 內毒素爲被廣泛地使用在植物保護或環境衛生上的一種對人畜安全的蛋白晶體，於自然界很容易被紫外線或其他微生物破壞而失去毒性，不致引起環境污染。另外可產生三種代謝產物的 α 、β 、γ －外毒素，其中 α 或 γ －外毒素是熱敏感的蛋白質類，β －外毒素則是熱穩定的類似 ATP 的 Adenine nucleotide，以低劑量處理會使昆蟲變態不完全，並有降低化蛹、羽化和生殖力之效應。然而並非所有的蘇力菌品系，在生長過程中皆會產生 β －外毒素，就文獻記載常用之 *Btk* 及 *Bti* 變種即無 β －外毒素之存在，可作爲生物殺蟲劑的生產菌株。根據結晶蛋白氨基酸序列和寄主範圍可將毒素分爲四類，分別爲 Cry Ⅰ（對鱗翅目有專一性）、CryⅡ（對鱗翅目和雙翅目有專一性）、Cry Ⅲ（對鞘翅目有專一性）、Cry Ⅳ（對雙翅目有專一性）。此外，又加上兩種新的、對線蟲有活性的毒素 CryⅤ和 CryⅥ。

蘇力菌於 1905 年由日本人 Ishiwata 首度自病死家蠶幼蟲體分離出來，當初命名爲 *Sotto-Bacillen*，亦即後來稱爲 *Bacillus sotto* 的菌體。其後，Berliner 氏於德國 Thuringia 一地採集到罹病的地中海粉斑螟 (*Anagastakuehniella*)幼蟲，並自蟲體分離出病原菌，而就採集地點命名爲 *Bacillus thuringiensis*，即今所稱之蘇力菌名字的由來，後來才知道兩氏所分離者係屬同一種之不同變種。1927 年 Mattes 又再度分離此菌，1928～1929 年 Husz 和 Metalinkov 父子首先應用於防治玉米螟(*Ostrinia nubilalis*)，結果顯示能降低玉米螟之蛀食率，以後在歐洲續有學者試用於防治斜紋夜盜、棉紅蛉蟲及白粉蝶皆獲致佳效，直到 1951 年才有商品出現，是法國製造之 Sporeine，目前商品已不下十數種(表一)。



圖一、蘇力菌產孢時之形態（x800）
Fig 1.The morphorlogy of Bt at sporing stage.（x800）



圖二、蘇力菌的孢子（左）與毒蛋白晶體（右）（x33000）
Fig.2 Spore（left） and toxic crystal protein（right） of Bt.（x33000）

表一、蘇力菌生物殺蟲劑主要製造銷售廠商及其產品與市場佔有率

Table 1. The trade products and market occupation percentage of the main manufacturers and sellers of *Bt* bioinsectcide.

公司名稱	商品名稱	市場佔有率% *
ABBOTT	DIPEL	40
SANDOZ**	JAVELIN,THURICIDE	20
NOVO	BIOBIT-Btk,FLORBAC-Bta	20
ECOGEN	CUTLASS,CONDOR,FOIL	7
Ciba-Geigy**	TUREX	7
Becker	(不詳)	2
Mycogen	MVP,M-Trak ,M-Peril	<2

註:*1995 年統計資料,市場值 6500 萬美元。其中 *Btk* 產品佔 85% ,*Bti* 佔 11% ,*Btt* 佔 2.4% 。

**1997.2 Ciba-Geigy 與 Sandoz 合併為 Novartis 公司。

國內約於 40 年前開始引進使用，以防治蔬菜、茶樹和森林害蟲，目前只有台肥公司設廠以大型醱酵槽生產蘇力菌原體，蘇力菌製劑則多仰賴進口，主要供應廠商為 Abbott、Dupont、Sandoz、ICI、CIBA-GEIGY，或以 OEM 方式進口原體在台製造(表二)。進口數量呈現波動起伏的現象，主要原因是當有新的殺蟲化學農藥上市時，蘇力菌使用量就會下降，但當新藥出現抗藥性時，蘇力菌又再度受重視，進口量又會增加，如此周而復始，循環不已。

蘇力菌之生產

蘇力菌殺蟲劑於 1940 年代首先在法國生產上市，1950 年代美國公司開始進行製劑之田間試驗，於 1961 年才完成第一項產品的登記。直到 1970 年間 Abbott Laboratories 之 Dipel 商品登記使用在 200 種不同作物和 55 種昆蟲之防治，才使得蘇力菌產品廣受歡迎。

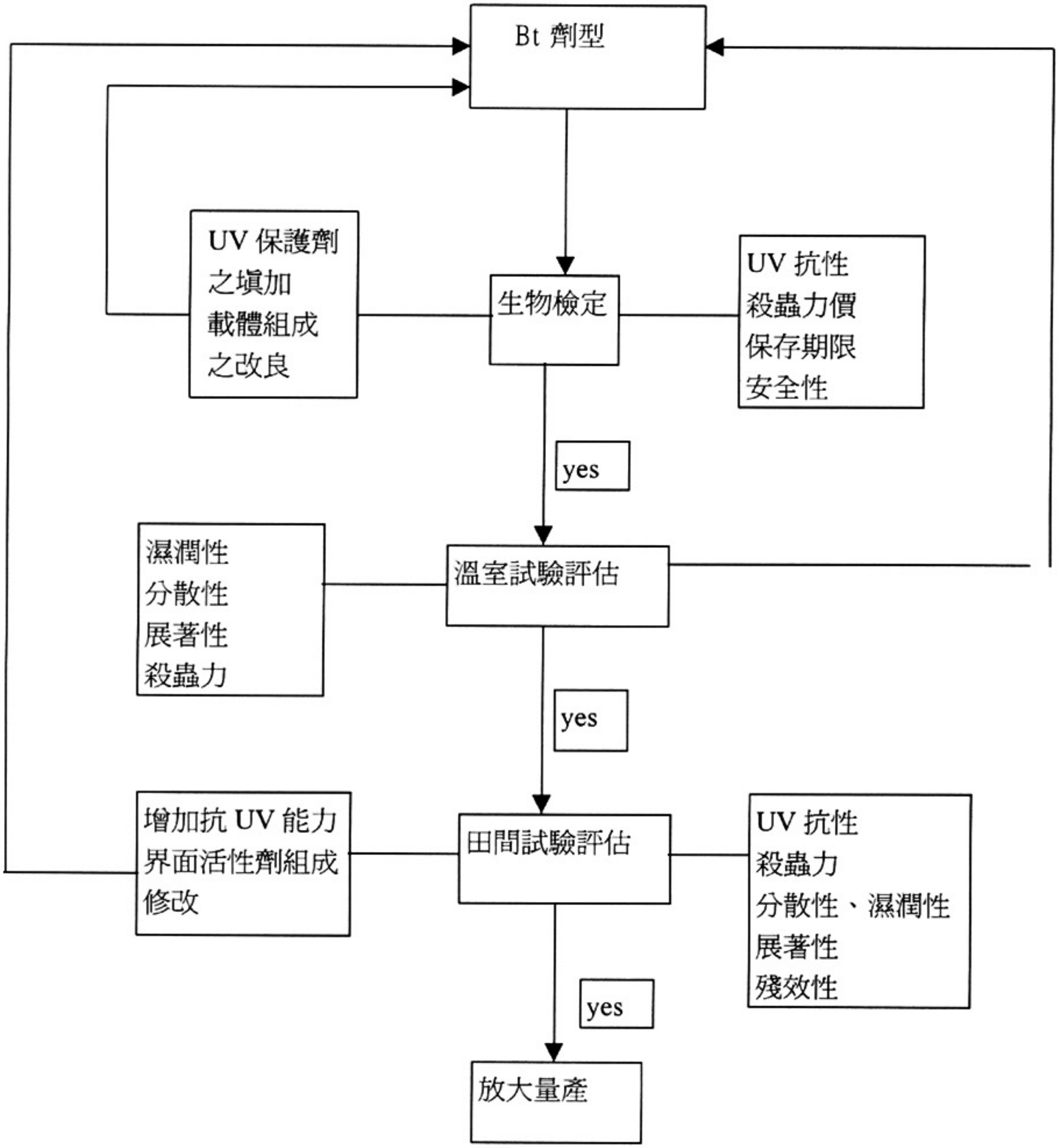
目前蘇力菌都以液態醱酵法生產，其工藝流程概述如下：

一、菌種活化與培養：1.低溫保存菌種活化 2.同步處理（斜面菌種以65℃水浴處理30分鐘）3.搖瓶培養 4.種槽培養

二、主醱酵槽培養：1.培養基調配與滅菌 2.最適醱酵條件設定 3.接菌 4.醱酵調控 5.收穫

三、產物回收：1.濃縮-以膜過濾或排渣離心機實施 2.純化:水洗 3.乾燥:噴霧乾燥

四、配方製劑：包括 1.載體(Carrier) 2.分散劑(Dispersant) 3.溼潤劑(Wetting agent) 4.紫外線保護劑等的選擇及製劑CNS檢驗測試，其工作流程參見圖三。



圖三、蘇力菌配方製劑之工作流程

Fig.3 Procedure of *Bt* formulation.

表二、國內登記有案之蘇力菌商品及廠商*

Table 2. The trade products and their agents of *Bt* registered in Taiwan.

商品名稱	劑型	含量%	廠商名稱
蘇力菌	WP	3·0	華農
大寶	WP	3·0	台灣亞培
見大吉	WP	10·3	台灣亞培
力寶	WP	3·0	生力貿易
新大寶	WP	3·0	台灣亞培
百力寶	WP	3·0	昆言
活力寶	WP	3·0	昆言
總寶	WP	3·0	雅飛
光華寶	WP	3·0	光華農化
農台新大寶	WP	3·0	農台
蘇滅寶	WP	3·0	臺益
獨佳	WP	10·0	嘉農
雙清	WP	–	益欣
雙效	WG	6·0	安農
菜寶	WP	3·0	省農會
克蟲靈	WP	3·0	嘉泰
滅菜蟲	WP	3·0	合林
速利殺	WP	3·0	安農
贊寶	FP	–	安農
雷公寶	WP	3·0	世大農化
惠光寶	WP	3·0	惠光
殊力菌	WP	–	興農

五、產品力價檢定：

(一)小菜蛾生物檢定法

供試昆蟲：小菜蛾(*Plutella xylostella*)三齡幼蟲。

供試蔬菜：無農藥新鮮的甘藍菜葉粉或葉片。

供試樣品：稀釋成不同濃度的藥劑懸浮液，與葉粉均勻混合；葉片則浸泡約30秒後取出使葉面略乾。標準品同供試樣品處理，並以去離子水處理作對照。

進行餵食處理2-3天，並記錄死亡蟲數。校正死亡率後，以

濃度對數－死亡機率值作Probit Analysis估算半致死濃度LC_{50}。計算樣品力價。

樣品力價(DBMU/mg)＝標準品LC50/ 樣品LC_{50} *標準品力價。

(二)酵素聯結免疫檢定 (ELISA)法

供試樣品及標準品總蛋白量分析：以牛血清蛋白爲標準劑。

供試樣品及標準品生物活性檢定及分析：同小菜蛾生物檢定法。

以ELISA檢測供試樣品及標準品毒蛋白含量，由已知樣品之蛋白含量對應吸光值求出相關方程式，並換算出未知樣品之濃度。製作樣品相對力價與總蛋白量及與濃度三者之關係圖。

六、蘇力菌申請農藥登記流程及所需文件

(一)蘇力菌申請農藥登記流程，參見圖四。

(二)蘇力菌製劑產品分析之資料需求

1.產品鑑定之背景資料

（1）來源說明：產製地，所用菌源

（2）成分含量說明

（a）所用菌種之學名，品系或血清型，分類地位

（b）有效成分名稱（毒蛋白及孢子），有效成分含量（IU/mg和CFU/g W.W表示）

（c）其他添加劑名稱、種類、含量及用途說明，如保護劑、展著劑...等。含量以重量百分比（W/W）表示。

（d）其他不純物。

（3）產製過程說明：（若係極機密文件，可申請於登記農藥許可證時再提出）

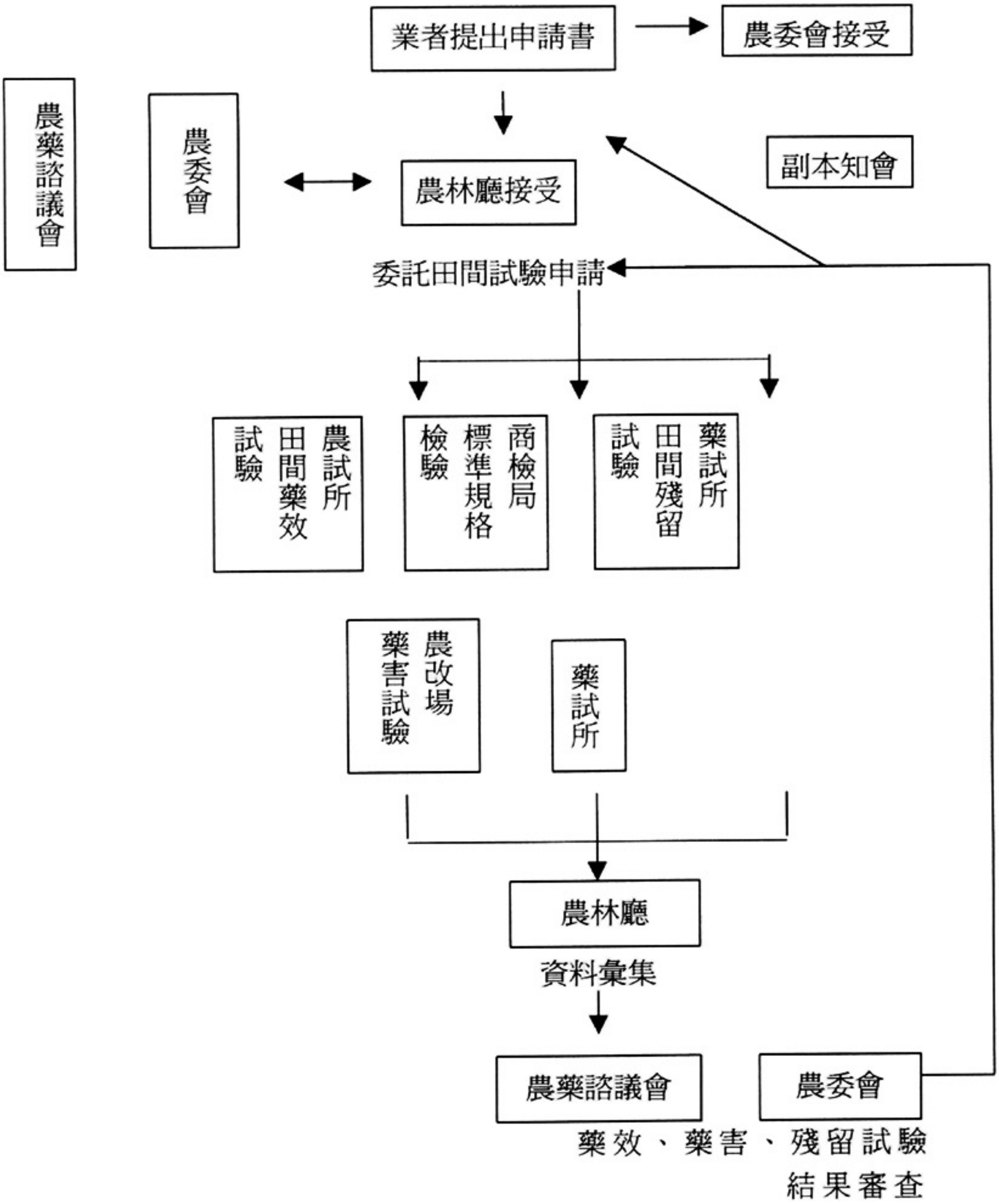
（a）產製過程摘要

（b）配方說明

（c）不純物產生之分析說明

2.生物特性及理化特性說明

（1）生物特性：該微生物在自然環境之消長情形，生物活性寄主範圍，生活史，作用機制或模式，培養方法及條件，菌落形態生長條件及貯存條件。是否產生毒藥及毒素種類。



圖四、蘇力菌申請農藥登記流程

Fig.4 Procedure of license application of *Bt* agricultural pesticide.

（2）理化特性：顏色、物理狀態、氣味、密度、比重或假比重、酸鹼度、貯存安定性、安定性（原體必需）、黏性（液體必需）、混合性（乳劑必需），包裝質材之腐蝕性等。

3.檢驗分析方法說明：包括使用儀器、方法、條件、計算公式、分析結果及合格範圍

（1）毒蛋白定性分析：SDS-PAGE

（2）定量：（a）製劑單位：CFU/g

（b）力價之國際單位/單位重量：IU/mg

（c）重量百分比：W/W

(三)蘇力菌製劑之毒理資料要件

1.若與已申請登記蘇力菌之亞種（subspecies）相同（*kurstaki*）、菌系不同，可免提供毒理試驗資料，惟仍需進行委託田間試驗。

2.若與已申請登記蘇力菌之亞種*Btk*不相同，則須提供完整的毒理資料，包括：

(1)大鼠（rats）靜脈急毒性/病原性試驗（acute intravenous toxicity/ pathogenicity study）

(2)大鼠口服（oral）急毒性/病原性試驗

(3)終端產品（final product）兔子真皮（dermal）急毒性/病原性試驗

(4)大鼠肺（pulmonary）急毒性/病原性試驗

(5)終端產品兔子原發的眼睛過敏試驗（primary eye irritation study）

蘇力菌之利用

一、蘇力菌之毒理

蘇力菌所產生的δ-內毒素爲一種毒蛋白，經昆蟲攝食進入其腸腔後，因其腸液之pH值約在9.0～10.5，其解蛋白酵素可將之分解而釋出一或多種27-140Kda毒性物質，此毒素與腸內細胞膜結合排列，干擾滲透壓平衡而導致細胞膨脹和分解，引起蟲體中腸或全身的痲痺而停止攝食，並造成腸皮膜組織的解離崩潰，最後死亡。其毒素之釋出是受蟲體之解蛋白酵素及pH值的影響，具專一性。

二、蘇力菌主要亞種介紹

Btk：防治十字花科蔬菜之鱗翅目及翹翅目類害蟲

Bti：防治蚊蚋及黑蠅幼蟲

Bta：防治小菜蛾及斜紋夜盜

Btm：防治擬尺蠖

Btt：防治馬鈴薯甲蟲

Bt buibui：防治青銅金龜子幼蟲(日本 Kubata 公司研發)

本省引進之蘇力菌殺蟲劑主要防治蟲害如下：

(一)十字花科蔬菜類－小菜蛾、菜心螟、大菜螟、緣點紋白蝶及紋白蝶

(二)瓜類、豆類、番茄、麻、甘藍、白菜－擬尺蠖

(三)茶、山茶、野牡丹、楊桐－茶蠶

(四)森林松樹類－松毛蟲。

三、蘇力菌產品使用方法簡介

蘇力菌產品使用方法及效果因廠牌而異，表三以活性單位 16,000IU/mg 之新大寶產品爲例作說明。使用時注意事項如下：

(一)每隔7-10天噴藥一次，採收前亦可施用。

(二)先用半量的水加入使用的劑量攪拌均勻後，再加入足量的水混合均勻。稀釋用水之pH以中性最佳。

(三)噴藥時務必均勻噴於作物上下葉表面。

(四)本劑須貯存於乾燥陰涼之處，不可暴露於日光之下。

(五)茶蠶幼蟲大量發生時盡量在幼齡期施藥。

(六)蘇力菌對人畜無毒性，屬安全性農藥，僅對極少數人或有敏感現象，若接觸皮膚以肥皂清洗即可。

四、蘇力菌產品的市場

未來全球蘇力菌生物殺蟲劑市場仍具發展潛力，主要原因是蘇力菌劑對人、畜無害，因此在先進國家中已展現逐漸取代化學農藥的趨勢。以美國爲例，其農業用蘇力菌生物殺蟲劑佔農業殺蟲劑之比例，預測將由 1992 年之 4%，提升至 2002 年之 19%，屆時蘇力菌生物殺蟲劑市場規模可達一億五仟萬美元，其中 *Btk* 菌株約佔 *Bt* 總市場的 85% 。國內因其他生化殺蟲劑加入競爭，例如由 *Streptomyces avermitilis* 所分泌之抗生素 Avermectin，市場呈現萎縮現象，年進口量在 50 公噸以下。

表三、蘇力菌產品使用方法

適用 作物	害蟲	稀釋 倍數	劑　量 (kg/ha/次)
蔬菜類	小菜蛾	1000	0.4-0.6
	菜心螟 大菜螟 紋白蝶	1500	
	擬尺蠖	2000	
森林	松毛蟲	800-1000	2.0
茶樹	茶　蠶	2000	0.5

結論與展望

蘇力菌是一種安全、環保、衛生的生物殺蟲劑，歐美國家特別指定使用於蔬菜、玉米及森林的蟲害防治，因此其市場不受其他化學殺蟲劑的影響，甚至還有逐漸取代化學農藥的趨勢，每年仍有約10％成長，而在亞洲地區因農藥管理法規不如歐美國家嚴謹，導致其他化學或生化殺蟲劑大行其道，而對環境衝擊最小的蘇力菌產品反被冷落了，真是令人痛心！農政單位實有必要加強對農民宣導使用安全的蘇力菌產品。國產的蘇力菌產品在品質提升方面尚需官、研、學界大力支援，特別是基因工程技術的引進，本土性優良的蘇力菌菌種亟待篩育、改良，以供作工業生產用菌株，相信在不久的將來，價廉物美又安全、衛生、環保的蘇力菌殺蟲劑將是農友的最佳選擇。

參考文獻

1. 蕭文鳳　1984　蘇力菌在十字花科蔬菜害蟲防治之應用　蔬菜害蟲研討會專刊　台灣省政府農林廳編印。
2. 簡道南　簡滄明　1994　蘇力菌（BTK）商業化製程之開發研究　生物農藥研究與發展研討會專刊　台灣省農業藥物毒物試驗所　中華農藥協會編印。
3. 向明　1998　台灣生物農藥研發及其產業　生物產業及與製藥產業（上冊）生物產業　田蔚城主編　九州圖書文物有限公司發行。